

補助事業番号 2022M-249
補助事業名 2022年度 アクアフォトミクスを活用した生体内酸化ストレス状態の非
侵襲モニタリング方法の開発 補助事業
補助事業者名 神戸大学大学院農学研究科アクアフォトミクス研究分野
特命教授 ツェンコヴァ ルミアナ

1 研究の概要

本研究事業の目的は、アクアフォトミクスと近赤外分光法 (NIRS) を適用し、非侵襲かつ *in vivo*における簡便で迅速な酸化ストレスの測定方法の開発である。体温計のようにいつでもどこでも測定可能な装置を作ることを最終目標とする。

2 研究の目的と背景

病気の早期診断、最適な治療法の選択、治療効果の判定などに不可欠であるが、現在の測定方法では侵襲的で時間がかかり、非侵襲的に生体内部を測定できる方法が理想的である。NIRSで取得した水のスペクトル特性を解析するアクアフォトミクスの発展により、生体システム状態を統合的に示すバイオマーカーとして用いることができる多次元水スペクトルパターン (WASP) が確立された。WASPにより特定の疾患、ストレス反応、生体システム状態の非破壊的な検出を可能である [1, 2]。これまでの研究の結果、生体内の組織や生体外においても体液の近赤外線 (NIR) スペクトルから、WASPを用いて酸化ストレスを検出できることが立証された [3]。放射線被ばくのようなハイリスクな状況下では、多くの人が簡便・迅速で苦痛のない酸化ストレス測定が必要とされることから、アクアフォトミクス原理に基づく特殊な技術と、使い勝手の良い携帯型装置の開発は有用である。

3 研究内容

3-1, *in vitro*実験: X線照射した水のWASP解析

まず、X線照射した水のWASPを解析するために、8種類の水サンプルそれぞれに、10種類の線量別にX線照射を施した。(写真1) 照射後、各水サンプルのNIR吸収スペクトルを取得し、吸収スペクトルと照射したX線量との関係を検討した。また、各水サンプルの吸収スペクトルに表れる照射効果の相違を調べ、照射効果が8種類の水それぞれに固有のものであるかどうか、また、X線照射の影響が時間の経過とともに減少するかどうかを検証した。さらに、照射効果は温度依存性を持つかどうかを調べるために、8種類の水から2種類を選び、4種類の温度でX線照射を行った。

水サンプルのスペクトル測定は、ベンチトップ型XDS-RLA分光器を用いた。

各水サンプルのスペクトルデータ毎に偏最小二乗回帰 (PLSR) を行った結果、照射したX線量を推定するモデル作成に成功し、X線量と吸収スペクトルの間に良好な直線関係があることが示された。この結果は、照射効果が水の種類において固有のものであることを強く示し

ている。また、照射1カ月後でも照射の影響を検出できることと、照射効果は水温の違いに大きく影響されないことが示された。

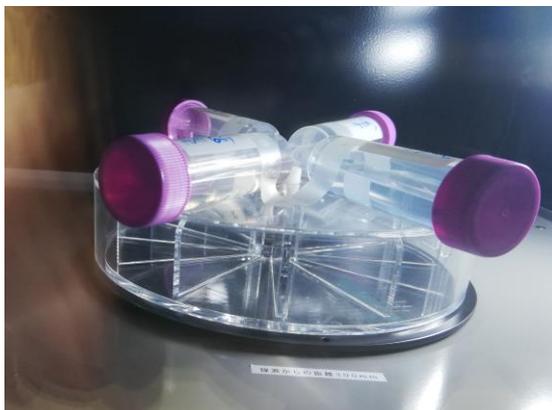


写真1 水へのX線照射実験中の様子。
X線照射装置のチャンバー内で照射を受ける水サンプル

3-2, *in vivo*実験：放射線照射マウスモデルでのWASPの線量応答性及び生体内分子との相関性の検討

本実験の目的は、X線照射マウスから取得したNIR吸収スペクトルから、マウスの被ばく線量の予測を検討することである。X線量を6段階に分けてマウスに照射し（写真2）、照射直後から経時的にマウスのスペクトル測定を行った（写真3）。スペクトル測定には、MicroNIR (Viavi Solutions, 米国)と、特注の装置 aquaphotomics sensor (APS-1623-X, DTK Electronics, ブルガリア)を用いた。



写真2：マウスへのX線照射実験中の様子。X線照射装置のチャンバー内で照射を受けるマウス



写真3：X線照射後のマウス腹部にて近赤外スペクトルを取得している様子

本実験の目的は、下記の疑問を解決することである：

- 1) 非破壊・非侵襲的に取得したマウス腹部のNIR吸収スペクトルから、マウスの被ばく線量をどの程度の精度で求めることができるのか。
- 2) マウスの被ばく線量は、照射後どの程度早い時間から、どの程度の時間経過後まで推定できるのか。

まず、市販のデバイスMicroNIRによる測定結果について説明する。

疑問1と疑問2の検討を目的として、回帰分析（PLSR）を実施した。PLSRの結果から、疑問1の被ばく線量に関する情報を得ることができた。開発したPLSRモデルの決定係数R²の値から、ある一定期間において、被ばく線量と特定のNIR波長の吸光度との間に非常に明確な直線関係があることが示された。以上のことから、PLSR解析により本実験の疑問1の回答を得た。また解析により、被ばく線量を予測できる最も早いタイミングは照射直後であるという疑問2に対する答えも得られた。

次に、特注のプロトタイプ装置APSを用いて取得したスペクトルデータの解析を行った。被ばく線量の異なるマウスのグループを識別する目的で、SIMCAによる分類解析を実施した。その結果、平均70%の精度で被ばく線量の識別に成功し、照射直後の群においては65%の精度を達成した。

4 本研究が実社会にどう活かされるか—展望

本事業は、被ばく放射線量の測定や酸化ストレス評価を迅速かつ非侵襲的な方法で実現し、より効率的で効果的な医療介入を可能にする。これは緊急時に限らず、疾病診断、治療効果のモニタリング、生体内の酸化ストレス状態の評価など、さまざまな分野への応用が期待される。

5 教歴・研究歴の流れにおける今回研究の位置づけ

水のスペクトルパターンとNIRSを用いた酸化ストレスの非侵襲的な評価は、新たに開発された画期的なバイオマーカーである。この技術は、病気や生理的状态の検出、治療のモニタリングのための強力なツールとして使うことができ、様々なアプリケーションへの適応に成功している[3, 4]。侵襲的な方法の限界を克服することで、個人別なアプローチや予防措置を可能にし、ヘルスケアに革命をもたらす可能性を秘めている。この研究の継続的な進展は、病気の診断や治療アプローチを一変させる可能性がある。

6 本研究にかかわる知財・発表論文等

現在、研究成果の発表に向けて論文の準備を進めている。

References

- [1] R. Tsenkova, Aquaphotomics: Dynamic spectroscopy of aqueous and biological systems describes peculiarities of water, *J. Near Infrared Spectrosc.* 17 (2009) 303-313. <https://doi.org/10.1255/jnirs.869>.
- [2] R. Tsenkova, AquaPhotomics: Water absorbance pattern as a biological marker, *NIR News.* 17 (2006) 13-20.
- [3] J. Muncan, R. Tsenkova, Aquaphotomics—From Innovative Knowledge to Integrative Platform in Science and Technology, *Molecules.* 24 (2019) 2742. <https://doi.org/10.3390/molecules24152742>.
- [4] R. Tsenkova, J. Muncan, Aquaphotomics for Bio-diagnostics in Dairy -

Applications of Near-Infrared Spectroscopy (in-press), Springer Verlag, Singapore, 2021.

7 補助事業に係る成果物

(1) 補助事業により作成したもの

事業の実施内容報告書 1部

事業概要の広報資料(本資料) 1部

(URL) <https://www.lab.kobe-u.ac.jp/ans-nirslab/research>

(2) (1) 以外で当事業において作成したもの

特になし

8 事業内容についての問い合わせ先

所属機関名：神戸大学大学院農学研究科

(コウベダイガクダイガクインノウガクケンキュウカ)

住 所： 〒657-8501

兵庫県神戸市灘区六甲台町1-1

担 当 者： 特命教授 ツェンコヴァ ルミアナ

担 当 部 署： アクアフォトミクス研究分野(アクアフォトミクスケンキュウブンヤ)

E - m a i l： rtsen@kobe-u.ac.jp

U R L： <https://www.lab.kobe-u.ac.jp/ans-nirslab/index.html>